

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2025.03.004

· 综述 ·

基于工程化外泌体的抗胰腺癌治疗

Engineered exosome-based anti-pancreatic cancer therapy

赵士瑾^{1△}, 蔡东昊^{1△}, 陈翠敏^{2,3}, 王凯旋¹(1. 海军军医大学第一附属医院 消化内科, 上海 200433; 2. 海军军医大学第一附属医院 临床研究中心, 上海 200433; 3. 海军军医大学第一附属医院 上海市航海医学与药械转化重点实验室, 上海 200433)

[摘要] 外泌体作为一种天然纳米囊泡, 具有卓越的生物相容性和运输能力, 能够携带多种治疗性分子, 被视为药物递送的优质载体。目前, 工程化外泌体的生产与构建策略, 包括选择来源细胞、优化产量的方法、表面修饰与载药技术等, 已有了长足的发展, 能够增强外泌体功能并克服天然外泌体的局限性, 因而开发出在胰腺癌治疗中的多种应用。联合声光动力疗法, 通过提高携带光敏剂或声敏剂的稳定性从而增加治疗效果; 与化疗药物结合, 提高药物稳定性、靶向性和递送效率, 降低毒性; 协同免疫治疗, 作为癌症疫苗抗原和佐剂, 增强免疫细胞对肿瘤抗原的摄取; 以及用于RNA治疗, 有效传递siRNA、shRNA和miRNA等核酸分子, 抑制胰腺癌细胞的增殖。工程化外泌体在胰腺癌治疗中展现出巨大潜力, 有望在未来实现临床转化, 推动胰腺癌治疗新策略的开发。

[关键词] 胰腺癌; 外泌体; 肿瘤靶向治疗; 免疫治疗; 光动力疗法

[中图分类号] R737.33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2025)03-0257-07

胰腺癌作为病死率较高的恶性肿瘤之一, 在过去50年间, 患者5年总生存率仅从3%微升至9%。《2022年中国癌症报告》显示, 该病位列中国恶性肿瘤发病率第十位, 超过四分之三的病人在诊断后一年内死亡^[1]。尽管近年来手术技术进步显著(如胰十二指肠切除术等术式的死亡率从1935年的35%降至3%)^[2], 联合细胞毒性药物的辅助化疗方案可使患者3年生存率突破60%^[3], 但超过50%患者初诊即属晚期, 该方案仅适用于不足半数的患者。对于晚期患者, 吉西他滨(gemcitabine, GEM)联合紫杉醇(paclitaxel, PTX)作为一线方案被广泛使用, 但受胰腺癌特殊的致密间质以及外基质成分的限制, 该方案对晚期患者生存期改善十分有限, 同时较大的毒性也降低了患者的生存质量^[4]。因此, 当前临床面临最大挑战便是如何开发更强力、更高效、更低毒性的晚期靶向治疗药物。纳米载体因其独特的性质, 在胰腺癌治疗领域展现出巨大潜力。尤其是外泌体, 作为细胞外囊泡家族中尺寸最小的一类, 已被证实能够穿透多种生理屏障, 并且凭借其固有的靶向能力, 能够精确地定位微小的肿瘤, 从而降低了全身性化疗对正常组织的毒性^[1]。在生物体内, 外泌体发挥着细胞间物质交换及通信的中介作用, 这为外泌体作为药物载体提供了坚实的生物学基础。基于这些特性, 外泌体有望成为未来胰腺癌治疗中极具潜力的新型药物载体。本文综述外泌体作为药物传递载体的独特优势, 系统总结工程化改造外泌体的路径, 详细阐述外泌体在胰腺癌治疗中的应用, 并指出当

前研究中面临的主要挑战与未来的机遇, 以期为进一步研究和临床应用提供参考和指导。

1 工程化外泌体

外泌体是一种双层磷脂膜结构的微小囊泡, 是细胞外囊泡的一种亚型, 几乎所有类型的细胞均可分泌。其大小通常为50~150 nm。外泌体内部具有丰富的内含物, 包括RNA、DNA、蛋白质、抗体、小分子代谢物等。天然外泌体能够直接激活靶细胞中的受体, 还能通过传递核酸、蛋白质等大分子, 充当细胞间信使, 调控多种生理病理过程, 如肿瘤的发生与转移、免疫性疾病的进展等^[2-4]。外泌体的组成成分具有丰富的多样性, 但其中80%的蛋白质是高度保守的: 外泌体表面的CD55和CD59, 可以增加体内循环的稳定性, 延长外泌体的体内循环时间; CD47分子能保护外泌体远离单核巨噬细胞系统, 从而避免被清除^[5]; 凋亡相关基因2相互作用蛋白X(apoptosis-linked gene 2-interacting protein X, ALIX)、肿瘤易感基因101(tumor susceptibility gene 101, TSG101)、热

[作者简介] 赵士瑾(1999—), 男, 硕士生, 主要从事抗胰腺癌生物材料研究, E-mail: 693404913@qq.com; 蔡东昊(1994—), 男, 硕士生, 主要从事抗胰腺癌生物材料研究, E-mail: caidonghao@smmu.edu.cn; △为共同第一作者。

[通信作者] 陈翠敏, E-mail: 535428425@qq.com; 王凯旋, E-mail: wangkaixuan224007@163.com

激蛋白(HSP)和四酯蛋白CD63、CD9和CD81等膜蛋白使外泌体具有选择性进入特定细胞的靶向能力。外泌体的纳米级尺寸、流动性、靶向性使它们能够跨越一些天然生物屏障,如血—脑脊液屏障等,例如原发性胶质母细胞瘤分泌的外泌体可以靶向脑内皮细胞的meuropilin-1受体使其具有穿透血—脑脊液屏障的能力^[6],这为外泌体突破胰腺癌的致密间质所构成的屏障创造了可能。

但天然外泌体半衰期短、内容物特异性大等问题会影响最终的治疗效果,同时引起靶器官外的损害。此外,外泌体的产量低以及外泌体的药物动力学监测也是临床使用时的潜在问题。工程化技术已在纳米载体领域被证实具有临床应用价值,通过不同的改造技术可以赋予外泌体特殊的功能。因此,如何对外泌体进行工程化改造克服天然外泌体的不足之处成为了一种新的研究方向和挑战。

1.1 外泌体来源细胞的选择

外泌体表面含有大量来源细胞的蛋白质,因此不同来源的外泌体在肿瘤治疗中展现出不同的潜力,目前用于治疗的外泌体是从许多不同类型的细胞培养液或体液中分离出来,选择合适的外泌体来源将为后续的工程化改造提供重要基础。

间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)具有许多独特的优点,是最常被用作外泌体供体的细胞类型。MSC外泌体能够传递siRNA以抑制肿瘤细胞的耐药性,其携带的miR-379能降低COX-2的表达,抑制癌细胞增殖^[7];携带的miR-143-3p可以促进胰腺癌CFPAC-1细胞的凋亡,抑制细胞的生长、侵袭和迁移^[8];携带的miR-126-3p通过靶向去整合素金属蛋白酶9(a disintegrin and metalloprotease 9, ADAM9),一种与肿瘤侵袭和转移密切相关的膜结合金属蛋白酶,可以显著抑制胰腺癌进展。另外,基于骨髓MSC与胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)的密切关系,以及“骨髓-胰腺癌轴”理论,骨髓MSC外泌体具有天然归巢胰腺癌的能力^[9-12]。且骨髓MSC外泌体具有CD47标记,使其免于被巨噬细胞清除,增加体内循环时间。这些发现揭示了骨髓MSC外泌体在胰腺癌治疗中的潜力^[13]。

除骨髓MSC外,未成熟树突状细胞(dendritic cell, DC)来源的外泌体表达大量主要组织相容性复合体I类分子(MHC-I)和肿瘤标志物,如HSP,它们参与抗原提呈和并刺激T细胞成熟,触发CD8⁺T细胞依赖的抗肿瘤免疫反应^[14];肿瘤细胞外泌体具有高产量以及天然的靶向归巢能力;NK细胞衍生的外泌体表达NK标记CD56和受体(如NKG2D)与在肿瘤细胞

中表达受限的配体结合,同时含有细胞溶解分子,如FasL、穿孔素和颗粒酶,在肿瘤细胞中表现出细胞溶解活性,可以增强搭载药物疗效^[15];中性粒细胞是人体循环中最丰富的固有免疫细胞,其分泌的外泌体可以释放细胞毒性底物,如活性氧和过氧化氢,此外还能激活Fas/FasL(Fas配体)凋亡信号通路,直接促进肿瘤细胞死亡,并募集其他抗肿瘤效应细胞^[16-17]。红细胞外泌体膜具有丰富的CD47,可以提供更长的循环时间,被用于共递送血红蛋白,改善肿瘤缺氧微环境^[18];乳源性外泌体提取成本低,能在胃肠道环境下保持稳定,并能在穿过胃肠道的过程中保护携带的核酸、蛋白质等分子完整性不受影响,有望成为口服给药的理想载体^[19]。细胞来源决定了外泌体的独特功能,因此,对于不同的治疗方法应选择更为合适的外泌体来源细胞。

1.2 外泌体产量优化策略

外泌体在癌症治疗中尚未得到充分应用,很大一部分原因是由于外泌体产量较低,难以大量生产,往往无法生产足够的数量来满足治疗需求^[20]。为了解决这个问题,目前有两种提高外泌体产量的策略。第一种策略是基于外泌体产生和循环途径进行基因工程编辑。这种策略通过调整一些参与外泌体包装、分泌、运输的关键基因,提高外泌体的分泌数量。例如HSP家族的成员HSP90、HSP20等,可以增强生物膜结构的变形能力,从而增加外泌体的生成。四次跨膜蛋白(retraspanin, TSPAN)家族的蛋白质参与生物膜的结合和融合,在外泌体生物发生中至关重要,例如TSPAN 6通过关联膜支架多配体蛋白聚糖(syndecan)的降解从而负调节外泌体的释放^[21]。含FYVE型锌指的磷酸肌醇激酶——3磷酸磷脂酰肌醇5-激酶(phosphatidylinositol 3-phosphate 5-kinase, PIKfyve)也参与外泌体的生物发生,抑制其功能可以导致外泌体的分泌增加^[22]。此外,干扰素刺激基因15(ISG15)是一种泛素样蛋白,催化泛素样翻译后修饰,能够提高外泌体的产量^[23]。第二种策略是通过不同的环境刺激来提高外泌体的产生,例如将细胞强制通过多孔膜或新型微流体装置以及暴露于碱性溶液然后超声处理^[24-26],这些技术获得的外泌体更加接近天然外泌体,但同时会带来外泌体所受破坏增加以及杂质的污染问题^[27]。

1.3 外泌体的表面修饰

外泌体的表面修饰能够赋予外泌体额外的功能,例如表面修饰整合素 $\alpha 5$ 靶向肽(integrin $\alpha 5$ -targeting peptide)的骨髓MSC外泌体可以特异靶向胰腺癌基质中的肿瘤相关成纤维细胞^[28],在膜上锚定聚恶唑啉(POx化细胞外囊泡,作为PEG化的替代

品)形成聚合物涂层,可以增强外泌体在血浆中的稳定性并显著增强血药浓度^[29]。表面修饰技术是药物传递研究的一个新兴领域,常见的表面修饰包括基因工程修饰、化学修饰。基因工程修饰指将引导蛋白或多肽的基因序列与选定的外泌体膜蛋白的基因序列融合,能够有效地在外泌体表面搭载引导性肽和蛋白质。外泌体膜表面表达的溶酶体相关膜蛋白2B是使用最为广泛的外泌体表面蛋白^[30]。但基因工程修饰的操作难度大、成本高、可扩展性差,限制了其应用。化学修饰则是通过偶联反应或脂质组装的方式将目标分子与外泌体蛋白相结合。例如,将含有炔基的蛋白质与叠氮标记的外泌体膜目标分子在铜的催化下进行化学连接,BHATTA等^[31]利用此方法,通过在细胞培养基中添加N-叠氮基乙酰基甘露糖胺-四酰化(Ac4ManAz),将多达4 400个叠氮基团负载到外泌体表面,设计了一种通用且方便的外泌体修饰技术,成功将免疫佐剂CpG装载到肿瘤细胞来源外泌体中。

此外,还有一些创新性的方法,比如膜杂化法,将外泌体和已经用肽、抗体或聚乙二醇进行功能化修饰的人造膜及其他天然生物膜之间利用亲疏水相互作用进行结合。这种利用人造膜作为媒介的新技术产生的杂交膜既具有特定的功能化,且不影响外泌体膜蛋白的天然功能。LI等^[31]利用MSC外泌体融合天然血小板构建了仿生纳米囊泡P-EV,其表面富含血小板膜来源的黏附蛋白,使其获得了募集单核细胞的能力。利用天然的细胞膜修饰纳米颗粒,能够完整地保留细胞膜表面的多样性抗原,极大提高了纳米药物的多样性^[32]。但目前采用的例如冻融法的杂交膜方法会对外泌体膜构成不可逆的损伤,降低部分药物的活性,另外融合比例的控制也会影响最终的治疗效果。杂交膜技术作为膜工程的重要分支,仍需更多的研究以优化其应用。

1.4 外泌体与无机杂化技术

无机纳米材料近年来取得了许多突破,已被广泛应用于化学、生物学和医学等领域的研究。以生物医学研究为例,其在纳米尺度上表现出独特的物理和化学性质,如磁性、光热性等性质,将外泌体与之以有机-无机杂化的方式相结合,可以保留无机部分的理化性质从而系统地改变外泌体功能和疗效,是一种很有前途工程化技术。

探究外泌体的药物动力学是未来外泌体药物应用于临床的重要问题。外泌体摄取量的准确监测以及其在体内的分布显著影响着药物的递送效率,通过用金纳米颗粒标记技术构建的示踪外泌体使研究人员可以观察外泌体在病灶部位的聚集情况以确定

最佳的给药时间和剂量,同时,利用外泌体的靶向性使金纳米颗粒富集在脑部肿瘤,方便成像观察后续治疗效果^[33]。超顺磁性氧化铁纳米颗粒(superparamagnetic iron oxide nanoparticle, SPION),是一类在外加磁场下能够表现出顺磁性行为的一种纳米颗粒,研究者设计出了在外磁场下具有可控靶向性的外泌体,例如利用SPION修饰中性粒细胞的外泌体(N-Ex),通过外磁场干预使其在小鼠肿瘤区域富集^[16]。此外,超顺磁性氧化铁纳米颗粒的另一个优点是其本身可以作为磁造影剂,在MRI中进行示踪成像^[34]。金属有机框架(metal organic framework, MOF)材料是新型金属有机材料一种类型。MOF可以形成一个多孔的三维框架,内外表面可以独立地工程化改造以产生不同的功能。由于具有这些特性,MOF纳米颗粒可以被设计为外泌体的无机框架形成一种新型复合材料。借助MOF提供的高孔隙率,使该复合材料可以达到高载药量。除MOF外,具有可修饰性、智能响应性非金属的功能化多孔硅纳米复合物(PSiNP)也已经被尝试用于结合外泌体递送系统^[35]。

将无机纳米材料与具有良好的生物相容性的外泌体结合,可以降低无机纳米材料毒性,有效增强外泌体的靶向能力,同时赋予递送系统更多的功能。目前在胰腺癌方向的研究上该方法还没有报道,相信这种结合在胰腺癌治疗上也具有广阔的应用前景。

2 工程化外泌体在胰腺癌治疗上的应用

2.1 外泌体联合声光动力疗法

光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)是一种新型的癌症治疗方法,该疗法通过将光敏剂的递送入肿瘤内部,在特定波长的光刺激下激活光敏剂,产生的活性氧(reactive oxygen species, ROS)来治疗癌症。PDT对无法切除的局限性胰腺癌患者减轻肿瘤负荷的疗效已在多个临床试验中得到验证^[36-37],且并发症相对较低。但PDT目前在临床上并未开展广泛的应用,主要有两点原因^[38]:首先,光敏剂如何被运输至肿瘤中,以及多少光敏剂可以沉积在肿瘤中,都难以准确检测,而剂量的测定对于确定疗效是非常重要的;其次则是生长位置处于更深层的肿瘤,比如胰腺肿瘤,由于光对这些部位的穿透较少,用PDT治疗效果受限,目前为解决深层肿瘤的光穿透问题一般通过CT引导下经皮穿刺植入光纤或超声内镜引导下经胃植入光纤^[39]。此外,肿瘤内部乏氧环境、肿瘤细胞自噬、光敏剂的稳定性都是PDT的限制因素。有研究^[40]表明,在外泌体中包封光敏剂可以提高光敏

剂的溶解度和稳定性、增加光敏剂对肿瘤的靶向性、增加光敏剂在肿瘤内的滞留时间。由于胰腺癌本身的独特乏氧环境一定程度上会抑制ROS的产生,外泌体还可以被设计用于在肿瘤中生成氧气,缓解肿瘤低氧,提高PDT的疗效,比如搭载小球藻、过氧化氢酶、二氧化锰等^[38]。现有的研究表明了利用外泌体平台递送光敏剂可以显著增加肿瘤细胞光敏剂的剂量,使得更少的照射可以引发更强烈的反应^[41]。此外,外泌体可以结合亲脂性染料或发光放射性核素如亲脂性碳菁染料、^{99m}Tc等,实现对肿瘤部位的光敏剂定量^[42]。JANG等^[43]从人胰腺癌细胞系中提取外泌体,将所提取出的外泌体物理破坏重组去除内部生物结构后,将疏水性二氢卟吩E6(chlorin e6, Ce6)作为光敏剂加载到脂质双分子层中,构建出Ce6-R-Exo用于治疗小鼠胰腺肿瘤。Ce6表现为疏水性,并在溶液中容易聚集,因此外泌体的磷脂双分子层内的疏水部分是Ce6良好载体,Ce6-R-Exo在激光处理后表现出明显的细胞毒性作用,在动物模型中,Ce6-R-Exo显示出对肿瘤组织的特异性归巢能力。

声动力治疗(sonodynamic therapy, SDT)是另一种利用ROS进行杀伤的治疗方式,区别在于使用低强度超声激活声敏剂。相较于光,超声具有更高的穿透性,目前所用的大部分光敏剂同时也是声敏剂^[44]。目前,声动力治疗联合外泌体在胰腺癌中尚无应用,考虑到胰腺癌作为腹腔深部脏器,相较来说低频超声探头可以从腹壁直接将能量送进胰腺癌内部,声动力疗法弥补光对组织穿透的限制,对患者的损伤和风险相对更小。声光动力的应用有效克服了肿瘤耐药性的问题,同时可以做到定点杀伤,保护健康组织。

2.2 外泌体联合化学治疗

GEM和PTX是胰腺癌治疗的一线化疗药物,广泛用于治疗不可切除的进展期胰腺癌,但是疗效不能令人满意,据报道,部分化疗的有效率只有20%~30%,游离药物化疗的主要难点在于难以突破由大量纤维组织、成纤维细胞等致密间质成分形成的屏障,另外晚期患者一般情况欠佳,难以耐受游离药物的毒副作用。为此,已有多项临床前研究对基于外泌体的化疗药物递送进行了探讨。外泌体中封装的治疗分子和化疗药物在循环中更为稳定,易于跨越生物屏障,具有更强的靶向性,并且全身毒性较低^[45]。有研究^[46]在胰腺荷瘤小鼠中评估了装载GEM的外泌体(Exo-Gem)的治疗效果,结果显示小鼠肿瘤生长受到抑制,延长了生存期,且对正常组织的损伤较小,另一方面利用自体巨噬细胞释放的外泌体包裹PTX所得到的Exo-PTX在体内外均表现出较更高的药物

递送能力、更持续的药物释放、在耐药癌细胞中的更强的积累能力。该研究证明了利用外泌体介导递送抗癌药物如GEM或PTX治疗胰腺癌的可行性,结果表明使用外泌体载体比直接使用药物更有效,对正常组织的毒性更小。临床数据显示,核糖核苷酸还原酶调节亚基M2(ribonucleotide reductase regulatory subunit M2, RRM2)基因表达升高的患者对基于GEM的化疗反应较少,而在胰腺癌中RRM2的高表达与预后不良的相关^[47]。地拉罗司(deferasirox, DFX)是一种口服治疗铁超载的铁螯合剂,有研究^[48]表明,DFX可以显著下调RRM2的表达,增强GEM的治疗效果,从而提高了抗癌疗效。然而,由于生物利用度较低、肿瘤靶向性较差,对DFX在癌症上的应用受到限制。为此,有研究^[49]将DFX与GEM共同装载入M1巨噬细胞来源的外泌体中,通过抑制癌细胞增殖、细胞附着和迁移以及对GEM的化疗耐药性,显著提高了对GEM耐药的PANC-1/GEM细胞和3D肿瘤球状体的杀伤效果。装载GEM和DFX的M1Exo为耐药胰腺癌提供了一种有效的治疗策略。

2.3 外泌体联合免疫治疗

近年来,免疫检查点抑制剂在白血病和黑色素瘤中取得巨大成功,肿瘤免疫治疗获得了巨大的发展势头。但由于PDAC组织中没有或只有很少的免疫细胞,属“冷”肿瘤,患者难以从免疫治疗中获益,因此迫切需要开发新的策略来提高疗效^[50]。胰腺癌细胞来源的外泌体是免疫治疗的潜在候选载体,它们含有大量的免疫调节蛋白、共刺激分子和黏附分子以及免疫标志物,一项关于胰腺癌外泌体的研究发现,大鼠胰腺癌外泌体可以与树突状细胞协同作用,激活肿瘤抗原特异性细胞毒性T细胞(CTL)反应,并通过降低CD44v6上调和LCK、ZAP70和ERK1、2磷酸化影响白细胞增殖^[51]。

在目前的研究中,外泌体联合免疫治疗通常有2个方向,其一是将外泌体作为癌症疫苗抗原和疫苗增效剂,其二是外泌体协助增强免疫细胞对肿瘤抗原摄取。半乳糖凝集素9(galectin-9)在小鼠和人类PDAC中都被发现高度表达。巨噬细胞表面表达的重要先天免疫受体C型凝集素1(dectin-1)可与半乳糖凝集素9结合,驱动巨噬细胞向M2表型转变从而促进免疫抑制。阻断半乳糖凝集素9可逆转免疫抑制。一项研究^[52]通过外泌体平台将半乳糖凝集素9/C型凝集素1轴抑制剂半乳糖凝集素9 siRNA及奥沙利铂联合送入PDAC中,研究人员从骨髓MSC的上清液中分离获取了纯化的外泌体,随后用电穿孔技术向其中加载siRNA,利用骨髓MSC独特的归巢

能力,使得外泌体高效地定位于胰腺癌中并显著逆转M2样肿瘤相关巨噬细胞(M2-TAM)的肿瘤免疫抑制,其研究表明iEXO可有效下调小鼠胰腺癌细胞中的靶基因,从而在体外阻断肿瘤细胞与巨噬细胞的连接,防止巨噬细胞极化。还有研究^[53]发现,肿瘤来源的外泌体可以作为癌细胞的抗原直接参与肿瘤的免疫反应,T细胞和NK细胞也可以被肿瘤来源的外泌体直接激活。卡妥索单抗联合活化的T细胞已被证明能够改善胰腺肿瘤特有的免疫抑制微环境^[54]。将类似药物联合外泌体载体来抑制调节性T细胞和阻断T细胞的免疫抑制信号也可能成为免疫治疗的一种新方法。一项针对消化道肿瘤的研究^[55]证实了赖氨酸特异性组蛋白去甲基酶1(lysine specific demethylase1, LSD1)基因缺失减少了外泌体PD-L1表达,恢复了消化系统肿瘤中T细胞的应答,为肿瘤的免疫治疗提供了新的可行靶点。

2.4 外泌体联合RNA治疗

成功使用RNA药物在体内外治疗肿瘤为胰腺肿瘤的治疗带来了希望。如何有效地将RNA传递到胰腺内仍然是一个挑战。最初的研究使用病毒、人造脂质颗粒等载体作为递送工具,然而它们递送效率较低且易被循环清除。近年来外泌体被认为是递送RNA的合理载体,VALADI等^[56]已经发现了外泌体可将mRNA运输到目的地,再启动“翻译”程序生产目标蛋白。有研究^[13]将非特异性siRNA通过电穿孔装入HEK-293细胞外泌体,并在体外成功送入胰腺癌PANC-1细胞中。在一项外泌体负载siRNA治疗胰腺癌的研究^[57]中,基于RNA干扰(RNAi)的方法,研究人员将靶向GTPase KRAS突变(该突变驱动了胰腺癌的起始、进展和转移)的siRNA或shRNA通过电穿孔的方式加载入成纤维细胞分泌的外泌体中,有效地将RNAi传递到非肝实质器官,特别是胰腺中,在后续的验证中,他们发现外泌体治疗的小鼠胰腺癌的进展较对照组受到明显抑制。对比使用脂质体治疗的对照组,使用外泌体治疗的小鼠的肿瘤受到了更大的抑制。此外,miR-124、miR-145-5p等miRNA可以利用转染技术添加进外泌体中并递送到胰腺癌细胞,抑制PDAC细胞的增殖和侵袭,增加凋亡和阻滞细胞周期^[58]。

目前,几种RNA疗法处于不同的发展阶段,包括mRNA、tRNA、siRNA和RNAi等疗法,但主要研究进度集中在临床前阶段。

3 结语与展望

外泌体因其卓越的生物相容性和稳定性,已成为药物递送领域的明星载体。它们独特的脂质双层

结构不仅提供了良好的物理保护,使其内部封装的分子在体内不易分解,而且其低免疫原性有助于避免免疫系统对外源性物质的攻击。与细胞治疗产品相比,外泌体的储存更为简便,能在-80℃的低温条件下保存长达半年,随着外泌体的提取、鉴定及相关研究的步骤的规范化,显示出其在临床应用中的巨大潜力。尽管如此,目前大多数工程化外泌体技术仍处于实验室研究阶段,工业化生产面临载药效率和生产规模的双重挑战。

外泌体在胰腺癌的发生、免疫反应以及转移中扮演着关键角色,目前作为优秀的诊断标志物已经有了大量的研究,其在药物递送和治疗中的潜力也引起了广泛关注。改造后的工程化外泌体能够直接杀伤肿瘤细胞、改造TME、逆转肿瘤耐药性,最终实现对胰腺癌的有效控制。目前,许多研究正致力于利用不同细胞来源的外泌体,设计出针对胰腺癌治疗的工程化外泌体,包括Codiak、BioSciences等在内的多家生物科技公司已经开始研究工程化外泌体的临床应用,负载KRAS G12D siRNA用于胰腺癌治疗外泌体的已处于I期临床试验阶段。尽管在临床应用的道路上仍存在诸多挑战,如产量低、成本高以及输注人体后生物活性下降等问题,但这些挑战也成为进一步研究和优化外泌体技术的动力。随着技术的不断进步,工程化外泌体作为胰腺癌治疗载体的前景无疑是光明的。

[参考文献]

- [1] FARRAN B, NAGARAJU G P. Exosomes as therapeutic solutions for pancreatic cancer[J]. *Drug Discov Today*, 2020, 25(12): 2245-2256. DOI:10.1016/j.drudis.2020.09.037.
- [2] SUN D M, ZHUANG X Y, ZHANG S Q, *et al.* Exosomes are endogenous nanoparticles that can deliver biological information between cells[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2013, 65(3): 342-347. DOI: 10.1016/j.addr.2012.07.002.
- [3] AUSLÄNDER S, AUSLÄNDER D, MÜLLER M, *et al.* Programmable single-cell mammalian biocomputers[J]. *Nature*, 2012, 487(7405): 123-127. DOI:10.1038/nature11149.
- [4] LUAN X, SANSANAPHONGPRICHA K, MYERS I, *et al.* Engineering exosomes as refined biological nanoplateforms for drug delivery[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2017, 38(6): 754-763. DOI: 10.1038/aps.2017.12.
- [5] CLAYTON A, HARRIS C L, COURT J, *et al.* Antigen-presenting cell exosomes are protected from complement-mediated Lysis by expression of CD55 and CD59[J]. *Eur J Immunol*, 2003, 33(2): 522-531. DOI:10.1002/immu.200310028.
- [6] FANG X Y, GONG R, YANG D C, *et al.* NIR-II light-driven genetically engineered exosome nanocatalysts for efficient phototherapy against glioblastoma[J]. *J Am Chem Soc*, 2024, 146(22): 15251-15263. DOI:10.1021/jacs.4c02530.
- [7] O' BRIEN K P, KHAN S, GILLIGAN K E, *et al.* Employing

- mesenchymal stem cells to support tumor-targeted delivery of extracellular vesicle (EV) -encapsulated microRNA-379[J]. *Oncogene*, 2018, 37(16): 2137-2149. DOI: 10.1038/s41388-017-0116-9.
- [8] XIE F, LI C, ZHANG X Y, *et al.* miR-143-3p suppresses tumorigenesis in pancreatic ductal adenocarcinoma by targeting KRAS[J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 119: 109424 [2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31521891/>. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109424.
- [9] BŁOGOWSKI W, BODNARCZUK T, STARZYŃSKA T. Concise review: pancreatic cancer and bone marrow-derived stem cells[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5(7): 938-945. DOI: 10.5966/sctm.2015-0291.
- [10] KABAKOV A E, GABAI V L. HSP70s in breast cancer: promoters of tumorigenesis and potential targets/tools for therapy[J/OL]. *Cells*, 2021, 10(12): 3446 [2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34943954/>. DOI:10.3390/cells10123446.
- [11] ANTOON R, OVERDEVEST N, SALEH A H, *et al.* Mesenchymal stromal cells as cancer promoters[J]. *Oncogene*, 2024, 43(49): 3545-3555. DOI:10.1038/s41388-024-03183-1.
- [12] TANG Z G, CHEN T M, LU Y, *et al.* Human bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes loaded with gemcitabine inhibit pancreatic cancer cell proliferation by enhancing apoptosis [J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2024, 16(9): 4006-4013. DOI: 10.4251/wjgo.v16.i9.4006.
- [13] KAMERKAR S, LEBLEU V S, SUGIMOTO H, *et al.* Exosomes facilitate therapeutic targeting of oncogenic KRAS in pancreatic cancer[J]. *Nature*, 2017, 546(7659): 498-503. DOI: 10.1038/nature22341.
- [14] PITT J M, ANDRÉ F, AMIGORENA S, *et al.* Dendritic cell-derived exosomes for cancer therapy[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(4): 1224-1232. DOI:10.1172/JCI81137.
- [15] CHOI Y H, KIM H Y, PARK J O, *et al.* Enhanced anti-tumor effects of natural killer cell-derived exosomes through doxorubicin delivery to hepatocellular carcinoma cells: cytotoxicity and apoptosis study[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(5): 2234 [2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40076856/>. DOI: 10.3390/ijms26052234.
- [16] ZHANG J H, JI C, ZHANG H B, *et al.* Engineered neutrophil-derived exosome-like vesicles for targeted cancer therapy[J/OL]. *Sci Adv*, 2022, 8(2): eabj8207 [2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35020437/>. DOI:10.1126/sciadv.abj8207.
- [17] JAILLON S, PONZETTA A, DI MITRI D, *et al.* Neutrophil diversity and plasticity in tumour progression and therapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(9): 485-503. DOI:10.1038/s41568-020-0281-y.
- [18] SANAAE M, RONQUIST K G, SANDBERG E, *et al.* Antibody-loading of biological nanocarrier vesicles derived from red-blood-cell membranes[J]. *ACS Omega*, 2024, 9(21): 22711-22718. DOI: 10.1021/acsomega.4c00650.
- [19] HAN G, KIM H, JANG H, *et al.* Oral TNF- α siRNA delivery via milk-derived exosomes for effective treatment of inflammatory bowel disease[J]. *Bioact Mater*, 2023, 34: 138-149. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2023.12.010.
- [20] HE J, REN W H, WANG W, *et al.* Exosomal targeting and its potential clinical application[J]. *Drug Deliv And Transl Res*, 2022, 12(10): 2385-2402. DOI:10.1007/s13346-021-01087-1.
- [21] GHOSSE R, CHÉRY M, AUDEBERT S, *et al.* Tetraspanin-6 negatively regulates exosome production[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(11): 5913-5922. DOI:10.1073/pnas.1922447117.
- [22] HESSVIK N P, ØVERBYE A, BRECH A, *et al.* PIKfyve inhibition increases exosome release and induces secretory autophagy[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(24): 4717-4737. DOI: 10.1007/s00018-016-2309-8.
- [23] YUAN Y, QIN H, LI H L, *et al.* The functional roles of ISG15/ISGylation in cancer[J/OL]. *Molecules*, 2023, 28(3): 1337 [2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36771004/>. DOI: 10.3390/molecules28031337.
- [24] SEZGIN E, KAISER H J, BAUMGART T, *et al.* Elucidating membrane structure and protein behavior using giant plasma membrane vesicles[J]. *Nat Protoc*, 2012, 7(6): 1042-1051. DOI: 10.1038/nprot.2012.059.
- [25] KLISCH S, GILBERT D, BREAUX E, *et al.* Building a simplistic automatic extruder: instrument development opportunities for the laboratory[J]. *J Chem Educ*, 2024, 101(8): 3292-3300. DOI: 10.1021/acs.jchemed.4c00287.
- [26] SHRESTHA D, BAHASOAN Y, EGGELING C. Cellular output and physicochemical properties of the membrane-derived vesicles depend on chemical stimulants[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2024, 16(37): 48982-48992. DOI:10.1021/acsami.4c07234.
- [27] PEÑA H D L, MADRIGAL J A, RUSAKIEWICZ S, *et al.* Artificial exosomes as tools for basic and clinical immunology[J]. *J Immunol Methods*, 2009, 344(2): 121-132. DOI:10.1016/j.jim.2009.03.011.
- [28] ZHOU P C, DU X L, JIA W L, *et al.* Engineered extracellular vesicles for targeted reprogramming of cancer-associated fibroblasts to potentiate therapy of pancreatic cancer[J/OL]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9(1): 151 [2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38910148/>. DOI: 10.1038/s41392-024-01872-7.
- [29] SIMON L, CONSTANZO J, TERRAZA-AGUIRRE C, *et al.* Surface modification of extracellular vesicles with polyoxazolines to enhance their plasma stability and tumor accumulation[J/OL]. *Biomaterials*, 2025, 313: 122748 [2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39180918/>. DOI:10.1016/j.biomaterials.2024.122748.
- [30] GORJI F S, MAHDAVIAN S F, KHODASHENAS S, *et al.* Exosomes with engineered brain derived neurotrophic factor on their surfaces can proliferate menstrual blood derived mesenchymal stem cells: targeted delivery for a protein drug[J]. *Protein J*, 2024, 43(6): 1070-1082. DOI:10.1007/s10930-024-10234-9.
- [31] LV Q J, CHENG L L, LU Y, *et al.* Thermosensitive exosome-liposome hybrid nanoparticle-mediated chemoimmunotherapy for improved treatment of metastatic peritoneal cancer[J/OL]. *Adv Sci*, 2020, 7(18): 2000515 [2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32999828/>. DOI:10.1002/adv.202000515.
- [32] BETZER O, PERETS N, ANGEL A, *et al.* *In vivo* neuroimaging of exosomes using gold nanoparticles[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(11): 10883-10893. DOI:10.1021/acsnano.7b04495.
- [33] BETZER O, PERETS N, ANGEL A, *et al.* *In vivo* neuroimaging of exosomes using gold nanoparticles[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(11): 10883-10893. DOI:10.1021/acsnano.7b04495.
- [34] ZHUANG M J, DU D, PU L L, *et al.* SPION-decorated exosome

- delivered BAY55-9837 targeting the pancreas through magnetism to improve the blood GLC response[J/OL]. *Small*, 2019, 15(52): e1903135 [2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31774631/>. DOI:10.1002/sml.201903135.
- [35] YONG T Y, ZHANG X Q, BIE N N, *et al.* Tumor exosome-based nanoparticles are efficient drug carriers for chemotherapy[J/OL]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 3838 [2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31444335/>. DOI:10.1038/s41467-019-11718-4.
- [36] HUANG H C, MALLIDI S, LIU J, *et al.* Photodynamic therapy synergizes with irinotecan to overcome compensatory mechanisms and improve treatment outcomes in pancreatic cancer[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(5): 1066-1077. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-0391.
- [37] DOLMANS D E J G J, FUKUMURA D, JAIN R K. Photodynamic therapy for cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(5): 380-387. DOI: 10.1038/nrc1071.
- [38] YANG H Y, LIU R F, XU Y X, *et al.* Photosensitizer nanoparticles boost photodynamic therapy for pancreatic cancer treatment[J/OL]. *Nanomicro Lett*, 2021, 13(1): 35 [2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34138222/>. DOI:10.1007/s40820-020-00561-8.
- [39] HUGGETT M T, JERMYN M, GILLAMS A, *et al.* Phase I/II study of verteporfin photodynamic therapy in locally advanced pancreatic cancer[J]. *Br J Cancer*, 2014, 110(7): 1698-1704. DOI: 10.1038/bjc.2014.95.
- [40] GAO C, BHATTARAI P, CHEN M, *et al.* Amphiphilic drug conjugates as nanomedicines for combined cancer therapy[J]. *Bioconjug Chem*, 2018, 29(12): 3967-3981. DOI: 10.1021/acs.bioconjugchem.8b00692.
- [41] GUO Y W, QIAN R J, WEI X, *et al.* pH-activated nanoplatform derived from M1 macrophages' exosomes for photodynamic and ferroptosis synergistic therapy to augment cancer immunotherapy[J/OL]. *Biomater Res*, 2025, 29: 0153 [2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40051791/>. DOI:10.34133/bmr.0153.
- [42] GHAVAMI M, VRAKA C, HUBERT V, *et al.* Radiolabeled HER2-directed exosomes exhibit improved cell targeting and specificity [J]. *Nanomedicine*, 2021, 16(7): 553-567. DOI: 10.2217/nmm-2020-0408.
- [43] JANG Y, KIM H, YOON S, *et al.* Exosome-based photoacoustic imaging guided photodynamic and immunotherapy for the treatment of pancreatic cancer[J]. *J Control Release*, 2021, 330: 293-304. DOI:10.1016/j.jconrel.2020.12.039.
- [44] WU T T, LIU Y, CAO Y, *et al.* Engineering macrophage exosome disguised biodegradable nanoplatform for enhanced sonodynamic therapy of glioblastoma[J/OL]. *Adv Mater*, 2022, 34(15): e2110364 [2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35133042/>. DOI: 10.1002/adma.202110364.
- [45] LI Y J, WU J Y, WANG J M, *et al.* Gemcitabine loaded autologous exosomes for effective and safe chemotherapy of pancreatic cancer [J]. *Acta Biomater*, 2020, 101: 519-530. DOI: 10.1016/j.actbio.2019.10.022.
- [46] KIM M S, HANEY M J, ZHAO Y L, *et al.* Development of exosome-encapsulated paclitaxel to overcome MDR in cancer cells [J]. *Nanomedicine*, 2016, 12(3): 655-664. DOI: 10.1016/j.nano.2015.10.012.
- [47] FUJITA H, OHUCHIDA K, MIZUMOTO K, *et al.* Gene expression levels as predictive markers of outcome in pancreatic cancer after gemcitabine-based adjuvant chemotherapy[J]. *Neoplasia*, 2010, 12 (10): 807-817. DOI:10.1593/neo.10458.
- [48] SHINODA S, KAINO S, AMANO S, *et al.* Deferasirox, an oral iron *Chelator*, with gemcitabine synergistically inhibits pancreatic cancer cell growth *in vitro* and *in vivo*[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(47): 28434-28444. DOI:10.18632/oncotarget.25421.
- [49] ZHAO Y M, ZHENG Y L, ZHU Y, *et al.* M1 macrophage-derived exosomes loaded with gemcitabine and deferasirox against chemoresistant pancreatic cancer[J/OL]. *Pharmaceutics*, 2021, 13 (9): 1493 [2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34575569/>. DOI:10.3390/pharmaceutics13091493.
- [50] FALCOMATÀ C, BÄRTHEL S, WIDHOLZ S A, *et al.* Selective multi-kinase inhibition sensitizes mesenchymal pancreatic cancer to immune checkpoint blockade by remodeling the tumor microenvironment[J]. *Nat Cancer*, 2022, 3(3): 318-336. DOI: 10.1038/s43018-021-00326-1.
- [51] ZECH D, RANA S, BÜCHLER M W, *et al.* Tumor-exosomes and leukocyte activation: an ambivalent crosstalk[J/OL]. *Cell Commun Signal*, 2012, 10(1): 37 [2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23190502/>. DOI:10.1186/1478-811X-10-37.
- [52] ZHOU W X, ZHOU Y, CHEN X L, *et al.* Pancreatic cancer-targeting exosomes for enhancing immunotherapy and reprogramming tumor microenvironment[J/OL]. *Biomaterials*, 2021, 268: 120546 [2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33253966/>. DOI:10.1016/j.biomaterials.2020.120546.
- [53] WHITESIDE T L. The effect of tumor-derived exosomes on immune regulation and cancer immunotherapy[J]. *Future Oncol*, 2017, 13(28): 2583-2592. DOI:10.2217/fon-2017-0343.
- [54] UMEBAYASHI M, KIYOTA A, KOYA N, *et al.* An epithelial cell adhesion molecule- and CD3-bispecific antibody plus activated T-cells can eradicate chemoresistant cancer stem-like pancreatic carcinoma cells *in vitro*[J]. *Anticancer Res*, 2014, 34(8): 4509-4519.
- [55] SHEN D D, PANG J R, BI Y P, *et al.* LSD1 deletion decreases exosomal PD-L1 and restores T-cell response in gastric cancer[J/OL]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 75 [2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35296335/>. DOI:10.1186/s12943-022-01557-1.
- [56] VALADI H, EKSTRÖM K, BOSSIOS A, *et al.* Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells[J]. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(6): 654-659. DOI:10.1038/ncb1596.
- [57] FARUQU F N, XU L Z, AL-JAMAL K T. Preparation of exosomes for siRNA delivery to cancer cells[J/OL]. *J Vis Exp*, 2018(142): 10.3791/58814 [2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30582600/>. DOI:10.3791/58814.
- [58] DING Y X, CAO F, SUN H C, *et al.* Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stromal cells deliver exogenous miR-145-5p to inhibit pancreatic ductal adenocarcinoma progression[J]. *Cancer Lett*, 2019, 442: 351-361. DOI:10.1016/j.canlet.2018.10.039.

[收稿日期] 2024-09-20

[修回日期] 2025-01-14

[本文编辑] 黄静怡